

MIROSLAW RATKIEWICZ

*Instytut Biologii
Uniwersytet w Białymstoku
Świerkowa 20B, 15-950 Białystok
e-mail: ermi@uwb.edu.pl*

OD GENETYKI DO GENOMIKI POPULACJI: NOWE PERSPEKTYWY BADAŃ W EKOLOGII I BIOLOGII EWOLUCYJNEJ

WPROWADZENIE

Gwałtowny rozwój technik biologii molekularnej w ostatnich kilku dziesięcioleciach oraz postęp technologiczny, przejawiający się m.in. automatyzacją wielu analiz, dostępność oprogramowania i szybkich komputerów, zrewolucjonizowały wszystkie dziedziny biologii. Jako pierwsze ze zdobyczy biologii molekularnej skorzystały genetyka i nauki jej pokrewne. Analizy informacji genetycznej zakodowanej w kwasie deoksyrybonukleowym (DNA) stały się bodaj najistotniejszym filarem badań systematycznych i filogenetycznych, ponieważ badając bezpośrednie podłoże zmian (mutacje w DNA) pomija się plastyczność fenotypu. Zdobycze biologii molekularnej wykorzystwała także genetyka populacji – nauka zajmująca się badaniem procesów i zjawisk odpowiedzialnych za utrzymywanie się lub spadek zmienności genetycznej w populacjach, a także poszukiwaniem przyczyn zróżnicowania genetycznego między populacjami. Genetyka populacji, z pomocą ekologii i geografii, próbuje określić czynniki ograniczające swobodną wymianę osobników między populacjami. To połączenie genetyki populacji i ekologii spowodowało powstanie dziedziny wiedzy określanej mianem genetyki ekologicznej, która bada źródła i mechanizmy utrzymujące zmienność genetyczną w populacjach i między populacjami, prowadzące w efekcie do specjacji (LOWE i współaut. 2004). Przed zastosowaniem technik DNA takie badania były bardzo utrudnione ze względu na niemal zupełny brak cech

nie podlegających plastyczności fenotypowej, o prostym sposobie dziedziczenia oraz niemożność wykonania krzyżówek testowych dla większości organizmów wolnożyjących. Dopiero zastosowanie technik elektroforezy białek, a następnie analizy DNA pozwoliło na szeroką skalę wykorzystać markery genetyczne w badaniach ekologicznych. Szybko okazało się, że w populacjach naturalnych, poza nielicznymi wyjątkami, występuje zaskakująco wysoki poziom zmienności genetycznej. W chwili obecnej dominuje pogląd, że większość obserwowanej zmienności jest neutralna względem sił doboru, a jej utrzymywanie się wynika z równowagi między tempem powstawania nowych alleli na drodze mutacji i ich utraty z populacji wskutek procesów losowych, takich jak dryf genetyczny czy efekt wąskiego gardła. Przykładem gatunku, który wykazuje niski poziom zmienności genetycznej wskutek drastycznej redukcji liczebności jest żubr, u którego średnia heterozygotyczność (H), oznaczona dla 69 loci białkowych, wyniosła zaledwie 1,2% (HARTL i PUCEK 1994). Około 1990 r. pojawia się nowy termin: ekologia molekularna, która rozumiana jest jako zastosowanie metod genetyki molekularnej do rozwiązywania problemów badawczych z zakresu współczesnej ekologii. Do najważniejszych można zaliczyć m. in.: ewolucję systemów kojarzeń, czas i charakter dyspersji, ewolucyjne konsekwencje fragmentacji środowisk, reintrodukcje gatunków i, od niedawna, ocenę ryzyka związanego z

genetycznie zmodyfikowanymi organizmami (GMO). Ważny, z punktu widzenia ewolucji, ale też i ekologii, jest problem hybrydyzacji i kontaktu zróżnicowanych genetycznie form, ras, podgatunków i gatunków w zmieniającym się środowisku. Dane molekularne pozwoliły także na badanie rozmieszczenia różnych linii genealogicznych w obrębie zasięgu występowania gatunku, określane jako filogeografia. Z kolei, znajomość tempa akumulacji zmian molekularnych pozwoliła na szacowanie wieku i dynamiki zmian liczebności badanych populacji. Tak wszechstronne zastosowanie metod biologii molekularnej do badań ekologicznych w celu testowania różnych hipotez ewolucyjnych i filogenetycznych wymaga zastosowania różnych klas markerów molekularnych. Markery te różnią się sposobem dziedziczenia: mogą być dziedziczone po obu rodzicach, np. mikrosatelitarny DNA zlokalizowany na autosomach, z kolei mitochondrialny DNA przekazują potomstwu u większości gatunków tylko samice, a gen *SRY* zlokalizowany na chromosomie Y u ssaków dziedziczą tylko samce. Markery dziedziczone po obu rodzicach można podzielić na dwie kategorie: markery kodominujące, dla których możliwe jest rozróżnienie homo- i heterozygot (np. mikrosatelitarny DNA i loci kodujące białka enzymatyczne zlokalizowane na autosomach) oraz markery dominujące (np. AFLP – polimorfizm długości amplifikowanych fragmentów DNA), dla których takie rozróżnienie nie jest możliwe. Zastosowanie różnych klas markerów w ekologii będzie zależało od postawionych celów badawczych (RATKIEWICZ i BORKOWSKA 2002). Na przykład mtDNA jest idealnym markerem w badaniach filogeograficznych, a z definicji nie nadaje się do ustalania ojcostwa. Przegląd technik molekularnych i ich zastosowanie w ekologii można znaleźć w książkach pt. „An introduction to molecular ecology” (BEEBE i ROWE 2004) i „Zastosowanie metod molekularnych w badaniach ekologicznych” (PILOT i współaut. 2005), natomiast książka pt. „Przykłady analiz DNA” (SŁOMSKI 2004) oferuje bogaty zbiór przepisów procedur laboratoryjnych umożli-

wiających wykonanie poszczególnych analiz. Wiele spośród obecnie stosowanych technik biologii molekularnej, ze względu na stały spadek kosztów i automatyzację analiz, pozwala w rozsądnym czasie analizować zmienność w setkach loci (np. technika AFLP) dla setek czy tysięcy osobników. Jednoczesna analiza wielu loci z różnych części genomu, w celu lepszego zrozumienia wpływu różnorodnych sił ewolucyjnych na poziom zmienności w obrębie genomów i populacji, określana jest terminem genomiki populacji (LUIKART i współaut. 2003). Ta nowa dyscyplina nauki stanowi połączenie koncepcji genomiki, najnowszych zdobyczy biologii molekularnej i nowoczesnych technologii z tradycyjną genetyką populacji, która próbuje rozróżnić zmienność adaptacyjną od tak zwanej zmienności neutralnej. Oznacza to, że dla większości organizmów dziko żyjących możliwe jest badanie dużej, reprezentatywnej części genomu w celu identyfikacji procesów ewolucyjnych oddziałujących na wybrane loci (dobór, mutacje, nielosowe kojarzenia, rekombinacje), jak i procesów oddziałujących na cały genom jednocześnie (dryf genetyczny, efekt wąskiego gardła, przepływ genów czy inbred). Rozróżnienie tych dwóch kategorii ma zasadnicze znaczenie dla zrozumienia procesów mikroewolucyjnych, ponieważ tylko mechanizmy oddziałujące na cały genom mogą dostarczyć wiarygodnych informacji na temat historycznych zmian demograficznych i filogenezy badanych populacji (LUIKART i współaut. 2003). Natomiast analiza procesów ewolucyjnych oddziałujących na niektóre loci stwarza możliwość badania adaptacji osobników do różnych warunków środowiska.

Celem niniejszego artykułu jest przegląd osiągnięć genetyki i genomiki populacji oraz prezentacja wybranych metod stosowanych w ekologii molekularnej, z uwzględnieniem identyfikacji loci neutralnych i tych, na które działa dobór naturalny. Omówiony zostanie także wkład polskich badaczy w genetykę populacji, ekologię molekularną i biologię ewolucyjną oraz nakreślone zostaną perspektywy przyszłych badań.

BADANIA SYSTEMÓW KOJARZEŃ I POKREWIEŃSTW OSOBNIKÓW

W badaniu ewolucji systemów kojarzeń i pokrewieństw określa się genotypy osobników z zastosowaniem loci dziedziczonych po obu rodzicach, które posiadają jak największą

liczbę alleli. Do tego celu sporadycznie były używane białka enzymatyczne, a w chwili obecnej stosowany jest mikrosatelitarny DNA, czyli krótkie, powtórzone wiele razy sekwen-

cje, złożone z 2–4 nukleotydów (GOLDSTEIN i SCHLÖTTERER 2000). Wysokie tempo mutacji mikrosatelitarnego DNA, rzędu 10^{-2} – 10^{-6} , sprawia, że liczba alleli w locus często przekracza dziesięć. Tak wysoki poziom zmienności przy analizie 10–20 loci pozwala ustalić dla każdego z badanych osobników unikalny genotyp. Informacje uzyskane dzięki genetycznej identyfikacji osobników w populacji doprowadziły do weryfikacji poglądów na temat systemów kojarzeń. Na przykład, u pospolitego w Polsce leśnego gryzonia, jakim jest nornica ruda, samice w okresie rozrodczym mają wykluczające się terytoria i areal jednego samca może zachodzić na terytoria kilku samic, co sugerowałoby że system kojarzeń u tego gatunku to polygynia. Jednak badania genetyczne z zastosowaniem wysoce polimorficznego locus fosfoglukomutazy-3 wykazały istnienie wieloojcostwa w miotach tego gatunku (RATKIEWICZ i BORKOWSKA 2000). Autorzy obserwowali kojarzenia poszczególnych samic w laboratorium z dwoma samcami, a proporcja młodych w uzyskanych z tych kojarzeń miotach od obu samców nie różniła się istotnie. Oszacowana częstość tego zjawiska w populacjach naturalnych wyniosła około 35% i zostało ono stwierdzone od wiosny do jesieni (RATKIEWICZ i BORKOWSKA 2000). Genetyczny systemem kojarzeń nornicy rudej to w rzeczywistości promiskuityzm.

Jest prawdopodobne, że genotyp osobnika ma istotny wpływ na jego sukces reprodukcyjny. KONIOR i współaut. (2006) w badaniach roztocza *Rhizoglyphus robini* wykazali, że homozygotyczne samce posiadające wariant „S” genu dehydrogenazy fosfoglukonianowej posiadały więcej potomstwa, skutecznie konkurując z samcami o genotypie „FF”. Płodność samic nie zależała od genotypu, który posiadały, jednak samice, które kojarzyły się z samcami o genotypie „SS” składały znacząco mniej jaj niż samice, które kojarzyły się z samcami „FF”. Powyższy przykład ilustruje konflikt pomiędzy wyższą zdolnością do zapłodnienia samic przez samce „SS” w porównaniu z samcami „FF” a negatywnym wpływem kojarzeń z samcami „SS” na płodność samic. Badania te dowodzą, że enzymatyczne warianty często nie są neutralne względem sił doboru i mają wpływ na dostosowanie osobników w warunkach naturalnych.

W analizach mających na celu wykluczenie rodzicielstwa wystarczające jest zbadanie genotypów domniemanych rodziców i ich potomstwa zaledwie w jednym wysoce polimorficznym locus. Aż 19 loci jest konieczne,

by z wysokim prawdopodobieństwem odróżnić kuzynów od rodzeństwa przyrodniego (BEEBE i ROWE 2004). Analiza pokrewieństw osobników w populacji wilków w Białowieckim Parku Narodowym przy użyciu 20 loci mikrosatelitarnego DNA wykazała, że osobniki w obrębie poszczególnych watah były bardziej spokrewnione ze sobą niż z innymi wilkami w BPN (JĘDRZEJEWSKI i współaut. 2005). Autorzy ci stwierdzili tendencję do wyższego pokrewieństwa samic niż samców w obrębie watahy, co może sugerować większą dyspersję samców.

Adopcje młodych osobników przez zwierzęta dorosłe są ciekawym problemem ewolucyjnym – czy osobniki adoptowane i adoptujące łączą związki pokrewieństwa (altruizm krewniaczy), czy jest to przejaw „pasożytności” na silnym instynkcie rodzicielskim obcych, dorosłych osobników? Badania z wykorzystaniem analiz polimorfizmu fragmentów DNA u mewy pospolitej wykazały, że adoptowane osobniki są bliżej spokrewnione z adoptującymi je dorosłymi, niż te, które nie zostały adoptowane (BUKACIŃSKI i współaut. 2000).

Podczas badania rodowodów, gdy analizuje się dużą liczbę loci posiadających często więcej niż 10 alleli, ryzyko błędnego oznaczenia genotypu jest wysokie i może dojść do wykluczenia właściwego rodzica. Ponadto, niezwykle wysoka czułość metod molekularnych stwarza możliwość fałszywego przypisania rodzicielstwa, wyniki muszą więc być weryfikowane. Aby uniknąć ewentualnych błędów w interpretacji, należy kilkakrotnie powtórzyć analizę niepewnych prób, a także powtórnie przebadać losowo wybrane ok. 5–10% osobników. Umożliwi to oszacowanie częstości popełnianych błędów w genotypowaniu. Analiza pokrewieństw powinna uwzględniać obecność takich błędów, co można wykonać za pomocą odpowiednich programów komputerowych (POMPANON i współaut. 2005). Do weryfikacji pokrewieństw określonych przy użyciu mikrosatelitarnego DNA można użyć mitochondrialnego DNA, o ile mamy wątpliwości co do pokrewieństw w linii matczynej. JĘDRZEJEWSKI i współaut. (2005) w badaniach wilków wykazali, że samiec z jednej watahy, dla którego analiza mikrosatelitów wskazywała bliskie pokrewieństwo z samicą z innej watahy, posiadał odmienny haplotyp mtDNA, nie był więc on z nią spokrewniony w linii matczynej i w rzeczywistości mógł być imigrantem z innej populacji.

ANALIZA ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO MIĘDZY POPULACJAMI

Najczęściej stosowaną miarą zróżnicowania genetycznego między populacjami jest parametr F_{st} , to znaczy standaryzowana wariancja frekwencji alleli między populacjami (NEIGEL 2002). Parametr ten przyjmuje zakres od zera (gdy frekwencje alleli są identyczne w porównywanych populacjach) do jedności (gdy populacje nie mają wspólnych alleli). W teorii istnieje zależność między F_{st} a poziomem przepływu genów (tj. liczbą migrantów, Nm). Jednak równanie $F_{st} = 1/(4Nm + 1)$, które ilustruje wspomnianą zależność, poddano bardzo surowej krytyce, sugerując ryzyko popełnienia poważnych błędów interpretacyjnych (patrz NEIGEL 2002). Rzeczywiście, analiza dywergencji genetycznej przy użyciu F_{st} nie zawsze jest jednoznaczna, o ile

nie dysponujemy dodatkowymi informacjami, np. na temat dyspersji mierzonej metodami ekologicznymi. Niska wartość F_{st} między populacjami równie dobrze może oznaczać swobodny przepływ genów w chwili obecnej, jak też niedawną ekspansję z niezróżnicowanego genetycznie źródła. Opinie na temat bezużyteczności F_{st} są jednak nie w pełni uzasadnione, gdyż porównanie tego parametru dla różnych klas markerów genetycznych pozwala z dużym powodzeniem wnioskować o dyspersji osobników różnej płci (patrz BORKOWSKA I RATKIEWICZ 2004a) oraz określać, kiedy zaszła dyspersja – przed (jak np. u nornicy rudej; BORKOWSKA I RATKIEWICZ 2004b) czy po zakończeniu sezonu rozrodczego.

IDENTYFIKACJA LOCI PODDANYCH DZIAŁANIU DOBORU

W ostatnich kilku latach dostrzeżono nowe możliwości analizy związane ze stosowaniem parametru F_{st} (LUIKART i współaut. 2003). Testy randomizacyjne pozwalają określić istotność statystyczną zróżnicowania genetycznego (F_{st}) niezależnie w każdym locus (RAYMOND I ROUSSET 1995), w efekcie czego istnieje możliwość identyfikacji loci odbiegających od średniej (ang. outlier loci). Loci, dla których stwierdzono bardzo niskie wartości F_{st} , mogą być potencjalnie poddane działaniu doboru stabilizującego. Z kolei loci, dla których F_{st} jest wyższe od średniej, mogą odzwierciedlać zmienność adaptacyjną (LUIKART i współaut. 2003). Identyfikacja loci odbiegających od pozostałych pod względem zróżnicowania genetycznego powinna być wykonana we wszystkich badaniach, przeprowadzonych nawet na 10-20 loci, ponieważ takie loci, chociaż nieliczne, to jednak są obecne w większości analiz (LUIKART i współaut. 2003). Identyfikacja locus jako odbiegającego nie oznacza jeszcze, że ten locus podlega działaniu doboru naturalnego. Istnieje szereg innych powodów, które mogą sprawić, że wartość F_{st} w tym locus jest wyższa niż dla innych loci: zbyt mała wielkość próby (nie mniej niż 30 osobników z populacji), błędnie odczytane genotypy, analiza populacji mieszańcowych (dlatego nie powinno się definiować populacji a priori, lecz zastosować analizę przyporządkowania osobników do populacji źródłowych (patrz PRITCHARD i

współaut. 2000). Konieczne jest więc przetestowanie, czy na dany locus rzeczywiście może działać dobór, co wymaga przeprowadzenia symulacji komputerowych rozkładu F_{st} w grupie badanych loci. Istniejące testy na neutralność loci różnią się założeniami i nie zawsze dają spójne wyniki. Zaleca się przeprowadzenie kilku różnych testów, np. za pomocą programów Fdist lub DetSel (LUIKART i współaut. 2003), a przyjmując, że na dany locus może działać dobór można tylko wtedy, gdy różne testy statystyczne wskazują na ten sam locus, a porównania przeprowadzone między populacjami zasiedlającymi różne środowiska (np. występują w górach na różnych wysokościach n.p.m.). Jeśli wykryliśmy loci jako potencjalnie poddane działaniu doboru, możemy ocenić ich wpływ na obliczone parametry populacyjne.

WILDING i współaut. (2001) w badaniach dwóch form morfologicznych ślimaka *Littorina saxatilis*, żyjących na różnych głębokościach i poddanych różnym presjom selekcyjnym wykazali, że drzewo filogenetyczne skonstruowane z pominięciem 15 odbiegających loci grupowało razem najbliższe geograficznie populacje. We wcześniejszej analizie wszystkich 306 loci AFLP populacje morfologicznie podobne grupowały się ze sobą, niezależnie od dzielącej je odległości. Ponadto, wykluczenie loci odbiegających znacząco zmieniło wyliczenia przepływu genów (Nm) między populacjami na podstawie F_{st} : z 3,9

na 308 osobników na pokolenie na populację. WILDING i współaut. (2001) sugerowali, że znaczna dywergencja w małej liczbie loci (15 z 306; 5%) może oznaczać nieallopatryczną specjację u *Littorina saxatilis*. Z kolei RATKIEWICZ i JAROSZEWICZ (2006) wykazali, że dwie formy (podgatunki) motyla *Carterocephalus palaemon*: *C. p. palaemon* i *C. p. tolli*, występujące sympatrycznie w Puszczy Białowieskiej, są znacząco zróżnicowane aż w 25% badanych loci, co raczej wyklucza specjację sympatryczną i sugeruje ich powstanie w różnych refugiumach.

Badania doboru powinny uwzględniać populacje w gradiencie środowisk lub czynnika selekcyjnego, a wyniki powinny być porównane z analizą cech ilościowych lub genów, co do których wiadomo, że działa

na nie dobór naturalny, np. geny głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC). BABIK i współaut. (2005b) dokonali częściowej rekonstrukcji struktury genetycznej populacji bobra europejskiego przy zastosowaniu dwóch klas markerów (mtDNA i geny MHC), których zmienność kształtowana była przez odmienne siły ewolucyjne, tj. dryf genetyczny i dobór naturalny. Analiza sekwencji genu *MHC II DRB* wykazała znaczący nadmiar niesynonimicznych substytucji, charakterystyczny dla pozytywnej selekcji. Dywergencja sekwencji tego genu była duża, co sugeruje znaczny wiek alleli, podczas gdy obserwowana nieduża zmienność neutralnych względem doboru haplotypów mtDNA u tego gatunku powstała zapewne podczas ostatniego zlodowacenia (DURKA i współaut. 2005).

IDENTYFIKACJA REFUGIÓW I ANALIZA STREF HYBRYDYZACJI

Ostatnie zlodowacenie miało ogromny wpływ na zmienność i strukturę genetyczną populacji różnych gatunków w Europie (TABERLET i współaut. 1998). Po ustąpieniu lodowca wskutek ocieplenia się klimatu różne linie ewolucyjne skolonizowały północne tereny z trzech głównych refugiumów: Półwyspu Iberyjskiego, Apenińskiego i Bałkanów, tworząc strefy wtórnego kontaktu (TABERLET i współaut. 1998). Jednak w przypadku niektórych gatunków obserwowana zmienność genetyczna w regionach wysuniętych bardziej na północ Europy nie dała się wytłumaczyć za pomocą trzech południowych refugiumów. Postulowano więc istnienie „krytycznych” refugiumów północnych, co jednoznacznie potwierdziły badania traszek (BABIK i współaut. 2005a) i kumaków (SZYMURA i współaut. 2000), dla których refugia zlokalizowane były w południowych Karpatach. Badania mtDNA i allozymów różnych ras chromosomowych ryjówki aksamitnej w Polsce sugerują, że różne rasy mogły powstać w trakcie polodowcowej ekspansji (RATKIEWICZ i współaut. 2002, WÓJCIK i współaut. 2002), a brak różnic genetycznych między nimi pozwala przypuszczać, że wywodzą się one z jednego refugium (JADWISZCZAK i współaut. 2006).

Wyniki badań molekularnych prób datowanych przed ostatnim zlodowaceniem wykazały, że przed nadejściem zlodowaceń Europę zasiedlały nieodróżnione genetycznie populacje i ich obecna struktura wynika z postglacjalnej kolonizacji z różnych refugiumów, w których doszło do utrwalenia różnych wa-

riantów wskutek dryfu (HOFREITER i współaut. 2004). Oznaczać to może, że obecna struktura genetyczna populacji wielu gatunków ma bardzo niedawne pochodzenie, to znaczy mniej niż 10 tysięcy lat, więc nie jest efektem długofalowych procesów. Badania stref hybrydyzacji powstałych po ustąpieniu ostatniego zlodowacenia stanowią próbę wglądu w „naturalny eksperyment ewolucyjny” i przez analizowanie zachodzących w takich strefach procesów dostarczają informacji o przebiegu specjacji. Większość badań pokazuje, że takie strefy kontaktu są stosunkowo trwałe, choć ma w nich miejsce introgresja genów między zróżnicowanymi genetycznie formami (SZYMURA i BARTON 1991, SZYMURA i współaut. 2000). Niekiedy może jednak dochodzić do rozmywania się granic gatunków, jak ma to miejsce u traszki karpackiej i zwyczajnej (BABIK i współaut. 2003, 2005a). W badaniach stref hybrydyzacji ryjówki aksamitnej FEDYK i współaut. (1991) wykazali istnienie mechanizmów ułatwiających przepływ genów między rasami, przejawiający się akumulacją rekombinantów międzyrasowych w centrum strefy (mechanizm ten chroni przed obniżeniem płodności w populacjach hybrydowych). Badania RATKIEWICZA i współaut. (2000) wydają się potwierdzać niemal swobodny przepływ genów w strefie kontaktu o podwyższonej częstości rekombinantów. Jeżeli sugestie HOFREITERA i współaut. (2004), dotyczące bardzo niedawnej dywergencji wielu gatunków w Europie są słuszne, a co za tym idzie, zróżnicowanie genetyczne między nimi jest sto-

sunkowo niewielkie, to rzeczywiście należy spodziewać się przepływu genów w większości stref hybrydyzacji zlokalizowanych na naszym kontynencie. Interesującym wydaje się pytanie, czy w przyszłości nastąpi całkowite

wymieszanie się kontaktujących się form, czy też strefy kontaktu raz zróżnicowanych form pozostaną względnie trwałym elementem genetycznego „krajobrazu” obszarów polodowcowych.

PERSPEKTYWY I KIERUNKI PRZYSZŁYCH BADAŃ

Jakie są perspektywy dalszych badań z zakresu genetyki i genomiki populacji w Polsce i na świecie? Przyszłe badania powinny z zasady uwzględniać rozróżnienie loci neutralnych od tych, na które może oddziaływać dobór. Po dokonaniu takiej identyfikacji możliwe są dwa kierunki analiz: loci selekcyjnie neutralne posłużą do zaawansowanych analiz demograficznych, ekologicznych (w tym związanych z ochroną gatunkową) i filogenetycznych w celu lepszego zrozumienia procesów ewolucyjnych oddziałujących na ogół genów (genom) w obrębie badanego gatunku. Z kolei badanie wybranych loci, które wykazują przejawy działania doboru, umożliwi poznanie mechanizmów adaptacji do różnych warunków środowiska. Kontynuowane zapewne będą badania na loci, co do których już teraz wiadomo, że działa na nie dobór naturalny (np. geny *MHC*), a analizy z zakresu genomiki populacji znacznie przyspieszą identyfikację kolejnych loci należących do tej grupy, ułatwiając np. badanie doboru w gradiencie środowiskowym, czy też w rozróżnianiu specjacji sympatycznej i parapatycznej. Celowym będzie kontynuowanie badań nad określeniem położenia i roli barier genetycznych (np. ras chromosomowych) oraz środowiskowych w powstawaniu różnic między populacjami oraz stref hybrydyzacji jako „naturalnych laboratoriów ewolucji”. Wskazane byłoby rozpoczęcie w Polsce badań określających wpływ autostrad i dróg szybkiego ruchu (fragmentacja środowisk) na poziom zmienności genetycznej w podzielonych sztucznie populacjach i powstawanie różnic między nimi. Z drugiej strony, określenia wymaga ocena negatywnych efektów

niedawnego przepływu genów na zmienność adaptacyjną populacji przystosowanych do odmiennych środowisk a zagrożonych zmianami antropogenicznymi. Istnieje ogromna potrzeba zidentyfikowania obszarów o wysokiej genetycznej różnorodności oraz wskazania jednostek odrębnych ewolucyjnie (ang. evolutionary significant units, ESU) przynajmniej dla gatunków rzadkich i zagrożonych wyginięciem. Identyfikacja populacji wykazujących duże zróżnicowanie wskutek dryfu genetycznego jak i tych, które zróżnicowały się wskutek zmian adaptacyjnych, pozwoli ocenić słuszność ewentualnych translokacji celem wzmocnienia osłabionych genetycznie, niskich liczebnie populacji rzadkich gatunków. Do translokacji powinny być wybierane osobniki z populacji niezróżnicowanych, a przede wszystkim nie wykazujących adaptacji do odmiennych warunków środowiska niż te, w których występuje populacja docelowa. Przejście od genetyki do genomiki populacji nie jest więc jedynie ilościową zmianą w liczbie badanych loci. U podstaw genomiki populacji leży rozróżnianie sił działających na pojedyncze geny od zjawisk obejmujących cały genom. Ta nowa dyscyplina wiedzy wpłynie na sposób myślenia, co doprowadzi do zmiany dotychczasowych strategii badawczych, tak by uwzględniały one aspekt ewolucyjny w kontekście całego genomu.

Niniejszy artykuł dedykuję pamięci prof. dr hab. Jana Rafińskiego i prof. dr hab. Stanisława Sywuli, genetyków populacji i biologów ewolucyjnych, ludzi wielkiej osobowości i kultury, którym wielu z nas tak wiele zawdzięcza.

FROM POPULATION GENETICS TO POPULATION GENOMICS: NEW PERSPECTIVES IN ECOLOGY AND EVOLUTIONARY BIOLOGY

Summary

Application of molecular methods in biology has revolutionized ecology, population genetics and evolutionary biology. For example, the molecular studies revealed complex mating systems and social

structures. Analysis of molecular markers revealed the existence of cryptic boundaries such as secondary contact (hybrid zones) among previously isolated populations. Most recently, due to simultaneous

study of numerous loci (the population genomics approach), the distribution of estimates of genetic differentiation (F_{st}) from individual loci has allowed the identification of candidate loci to be under selection. Such analyses may help answer many important evolutionary questions and will also improve

inferences in classical population genetics dealing with demography and evolutionary history. Several papers concerning interesting aspects of population genetics and molecular ecology revealed by Polish scientists are discussed and future perspective for population genomics approach are highlighted.

LITERATURA

- BABIK W., BRANICKI W., CRNOBRNJA-ISAILOVIC J., COGALNICEANU D., SAS I., OLGUN K., POYARKOV N. A., GARCIA-PARIS M., ARNTZEN J. W., 2005a. *Phylogeography of two European newt species - discordance between mtDNA and morphology*. Mol. Ecol. 14, 2475-2491.
- BABIK W., DURKA W., RADWAN J., 2005b. *Sequence diversity of the MHC DRB gene in the Eurasian beaver (Castor fiber)*. Mol. Ecol. 14, 4249-4257.
- BABIK W., SZYMURA J. M., RAFIŃSKI J., 2003. *Nuclear markers, mitochondrial DNA and male secondary sexual traits variation in a newt hybrid zone (Triturus vulgaris x T. montandoni)*. Mol. Ecol. 12, 1913-1930.
- BEEBE T. J. C., ROWE G., 2004. *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford University Press, Oxford.
- BORKOWSKA A., RATKIEWICZ M., 2004a. *Markery molekularne – narzędzia w badaniu dyspersji osobników różnej płci*. Wiad. Ekol. 50, 3-17.
- BORKOWSKA A., RATKIEWICZ M., 2004b. *Seasonal changes of population genetic structure and relatedness in the bank vole Clethrionomys glareolus: An analysis of age cohorts*. Ann. Zool. Fenn. 41, 661-670.
- BUKACIŃSKI D., BUKACIŃSKA M., LUBJUH T., 2000. *Adoption of chicks and the level of relatedness in common gull, Larus canus, colonies: DNA fingerprinting analyses*. Anim. Behav. 59, 289-99.
- DURKA W., BABIK W., DUCROZ J. F., HEIDECKE D., ROSELL F., SAMJAA R., SAVELJEV A. P., STUBBE A., ULEVICIUS A., STUBBE M., 2005. *Mitochondrial phylogeography of the Eurasian beaver Castor fiber L.* Mol. Ecol. 14, 3843-3856.
- FEDYK S., CHĘTNICKI W., BANASZEK A., 1991. *Genetic differentiation of Polish populations of Sorex araneus L. III. Interchromosomal recombination in a hybrid zone*. Evolution 45, 1384-1392.
- GOLDSTEIN D. B., SCHLÖTTERER C., 2000. *Microsatellites evolution and applications*. Oxford University Press, New York.
- HARTL G. B., PUCEK Z., 1994. *Genetic depletion in the European bison (Bison bonasus) and the significance of electrophoretic heterozygosity for conservation*. Cons. Biol. 8, 167-174.
- HOFREITER M., SERRE D., ROHLAND N., RABEDER G., NAGEL D., CONARD N., MÜNDEL S., PÄÄBO S. 2004. *Lack of phylogeography in European mammals before the last glaciation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 12963-12968.
- JADWISZCZAK K., RATKIEWICZ M., BANASZEK A., 2006. *Analysis of molecular differentiation in a hybrid zone between chromosomally distinct races of the common shrew, Sorex araneus (Insectivora: Soricidae) suggests their common ancestry*. Biol. J. Linn Soc. (w druku).
- JĘDRZEJEWSKI W., BRANICKI W., VEIT C., MEDUGORAC I., PILOT M., BUNEVICH A. N., JĘDRZEJEWSKA B., SCHMIDT K., THEUERKAUF J., OKARMA H., GULA R., SZYMURA L., FÖRSTER M., 2005. *Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves Canis lupus*. Acta Theriol. 50, 3-22.
- KONIOR M., RADWAN J., KOŁODZIEJCZYK M., KELLER L., 2006. *Strong association between a single gene and fertilization efficiency of males and fecundity of their mates in the bulb mite*. Proc. R. Soc. B. 273, 309-314.
- LOWE A., HARRIS S., ASHTON P., 2004. *Ecological genetics: design, analysis and application*. Blackwell Publishing, Oxford.
- LUIKART G., ENGLAND, P. R., TALLMON, D., JORDAN S., TABERLET P., 2003. *The power and the promise of population genomics: from genotyping to genome typing*. Nature Rev. Genet. 4, 981-994.
- NEIGEL J. E., 2002. *Is F_{ST} obsolete?* Conserv. Genet. 3, 167-173.
- PILOT M., RUTKOWSKI R., MALEWSKA A., MALEWSKI T., 2005. *Zastosowanie metod molekularnych w badaniach ekologicznych*. MiZ PAN, Warszawa.
- POMPANON, F., BONIN A., BELLEMAIN E., TABERLET P., 2005. *Genotyping errors: causes, consequences and solutions*. Nature Rev. Genet. 6, 848-859.
- PRITCHARD J. K., STEPHENS M., DONNELLY P., 2000. *Inferences of population structure using multilocus genotype data*. Genetics 155, 945-959.
- RATKIEWICZ M., BORKOWSKA A., 2000. *Multiple paternity in the bank vole (Clethrionomys glareolus): field and experimental data*. Z. Säugetierk. 64, 1-9.
- RATKIEWICZ M., BORKOWSKA A., 2002. *Zastosowanie techniki molekularnych w ekologii*. Wiad. Ekol. 48, 99-121.
- RATKIEWICZ M., JAROSZEWCZ B., 2006. *Allopatric origins of sympatric forms: the skippers Carterocephalus palaemon palaemon, C. p. tolli and C. silvicolus*. Ann. Zool. Fenn. (w druku).
- RATKIEWICZ M., FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., SZALAŁ K. A., GIELLY L., TABERLET P., 2002. *The Evolutionary history of the two karyotypic groups of the common shrew, Sorex araneus, in Poland*. Heredity 88, 235-242.
- RATKIEWICZ M., SUPRUNIUK J., FEDYK S., BANASZEK A., CHĘTNICKI W., SZALAŁ K., 2000. *Genetic differentiation and gene flow between chromosome races Drnholec and Łęgucki Młyn of the common shrew (Sorex araneus) in northern Poland*. Acta Theriol. 45 (Suppl. 1), 79-91.
- RAYMOND M., ROUSSET F., 1995. *An exact test for population differentiation*. Evolution 49, 1280-1283.
- SŁOMSKI R. (red.), 2004. *Przykłady analiz DNA*. Akademia Rolnicza, Poznań.
- SZYMURA J. M., BARTON N. H., 1991. *The genetic structure of the hybrid zone between the fire-bellied toads Bombina bombina and B. variegata: comparisons between transects and between loci*. Evolution 45, 237-261.
- SZYMURA J. M., UZZELL T., SPOLSKY C., 2000. *Mitochondrial DNA variation in the hybridizing fire-bellied toads, Bombina bombina and B. variegata*. Mol. Ecol. 9, 891-899.
- TABERLET P., FUMAGALLI L., WUST-SAUCY A., COSSON J., 1998. *Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe*. Mol. Ecol. 7, 453-464.

WILDING C., S., BUTLIN R., K., GRAHAME J., 2001: *Differential gene exchange between parapatric morphs of Littorina saxatilis detected using AFLP markers*. J. Evol. Biol. 14, 611–619.

WÓJCIK J. M., RATKIEWICZ M., SEARLE J. B., 2002. *Evolution of the common shrew: cytological and molecular aspects*. Acta Theriol. 47, 139–167.